10 月 October
2020，63(10)：1201－1206

昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

http：//www.insect.org.cn
doi：10.16380/j.kcxb.2020.10.005

转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因玉米 Cry1Ab/Cry1Ac 融合蛋白表达及对亚洲玉米螟的室内杀虫效果

刘晓贝[1,2]，白树雄[2]，王振营[2]，王月琴[2]，王勤英[1,*]，何康来[2,*]

（1. 河北农业大学植物保护学院，河北保定 071000；
2. 中国农业科学院植物保护研究所，植物病虫害生物学国家重点实验室，北京 100193）

摘要：【目的】室内抗螟性评价是转 Bt 基因抗虫玉米研发和安全性评价的重要环节。【方法】采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定了转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因玉米 ZZM030 心叶中 Cry1Ab/Cry1Ac 融合杀虫蛋白的表达量；采用室内生测法测定了分别取食转基因玉米 ZZM030 和非转基因玉米 X249 心叶后亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 敏感品系 ACB-BtS、Cry1Ab 抗性品系 ACB-AbR 和 Cry1Ac 抗性品系 ACB-AcR 初孵幼虫的存活率。【结果】转基因抗虫玉米 ZZM030 4 叶期和 8 叶期心叶中 Cry1Ab/Cry1Ac 融合杀虫蛋白的表达量分别是 10.62 和 2.94 μg/g FW。敏感品系亚洲玉米螟初孵幼虫取食转基因玉米 ZZM030 心叶 2 d 的存活率仅为 23.6%，4 d 后存活率为 0，而取食非转基因对照玉米 X249 心叶 4 d 的存活率高达 93.1%。Cry1Ab 抗性品系和 Cry1Ac 抗性品系初孵幼虫取食转基因玉米 ZZM030 心叶 6 d 后的存活率分别为 11.1% 和 12.5%，而取食非转基因玉米 X249 心叶 6 d 后的存活率分别为 81.9% 和 77.8%。【结论】转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因玉米 ZZM030 心叶中高表达的 Cry1Ab/Cry1Ac 融合蛋白对亚洲玉米螟初孵幼虫具有极高的杀虫效果。

关键词：亚洲玉米螟；转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因玉米；杀虫效果；蛋白表达量；室内生测

中图分类号：Q965.9　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2020)10-1201-06

Expression of Cry1Ab/Cry1Ac fusion protein in the transgenic *cry1Ab/cry1Ac* maize and its control efficacy against the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Crambidae), in the laboratory

LIU Xiao-Bei[1,2], BAI Shu-Xiong[2], WANG Zhen-Ying[2], WANG Yue-Qin[2], WANG Qin-Ying[1,*], HE Kang-Lai[2,*] (1. College of Plant Protection, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071000, China; 2. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract:【Aim】Evaluating the efficacy of transgenic Bt maize for resistance to target insect in the laboratory is a key part of the research and development and the environmental safety assessment of insect resistant transgenic maize.【Methods】The expression levels of Cry1Ab/Cry1Ac fusion protein in fresh whorl leaves of transgenic *cry1Ab/cry1Ac* maize ZZM030 were quantified by using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The survival rates of neonates of the susceptible strain (ACB-BtS), Cry1Ab-resistant strain (ACB-AbR) and Cry1Ac-resistant strain (ACB-AcR) of the Asian corn borer (ACB), *Ostrinia furnacalis*, fed on whorl leaves of the transgenic maize ZZM030 and non-transgenic maize X249 were determined by using laboratory bioassays.【Results】The expression levels of Cry1Ab/Cry1Ac fusion protein in the whorl leaves of the transgenic maize ZZM030 at the 4-leaf stage and 8-leaf

基金项目：国家转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08003-001)

作者简介：刘晓贝，女，1988 年 2 月生，河北邯郸人，硕士研究生，研究方向为农业昆虫与害虫防治，E-mail：liuxiaobei402@163.com

* 通讯作者 Corresponding authors，E-mail：wqinying@hebau.edu.cn；hekanglai@caas.cn

收稿日期 Received：2020-03-09；接受日期 Accepted：2020-07-01

stage were 10.62 and 2.94 μg/g FW, respectively. The survival rates of ACB-BtS neonates fed on whorl leaves of the transgenic maize ZZM030 for 2 d and more than 4 d were only 23.6% and 0, respectively, while the survival rate of ACB-BtS neonates fed on the non-Bt control maize X249 for 4 d was 93.1%. The survival rates of ACB-AbR and ACB-AcR neonates fed on whorl leaves of the transgenic maize ZZM030 for 6 d were 11.1% and 12.5%, respectively, whereas those fed on whorl leaves of non-Bt maize X249 for 6 d were 81.9% and 77.8%, respectively.【Conclusion】The highly expressed Cry1Ab/Cry1Ac fusion protein in transgenic *cry1Ab/cry1Ac* maize ZZM030 has an excellent control efficacy against ACB neonates.

Key words: *Ostrinia furnacalis*; transgenic *cry1Ab/cry1Ac* maize; control efficacy; protein expression level; laboratory bioassay

亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 是我国玉米生产上的重要害虫。常年为害会导致玉米减产 10% 左右,大发生年份可减产 30% 以上甚至绝产(周大荣, 1996; 王振营等, 2000)。亚洲玉米螟为害亦能够加重玉米穗腐病的发生,导致玉米籽粒真菌毒素增加,影响食用安全(宋立秋等, 2009)。全生育期有效表达 Bt 杀虫蛋白的转基因抗虫玉米为亚洲玉米螟的防治提供了新途径(He *et al*., 2003; 王冬妍等, 2004)。截至 2018 年,全球已有 14 个国家种植了转基因玉米,种植面积达 5 890 万 hm^2,其中转基因抗虫玉米种植面积达 550 万 hm^2。转基因抗虫玉米表达的 Cry1Ab, Cry1F 和 Vip3A 蛋白是目前国际上商业化应用最广泛的用于防治鳞翅目害虫的 Bt 杀虫蛋白。另外,叠加多基因(如 MON89034,表达 Cry2Ab2 + Cry1A.105; Bt11 × MIR162, 表达 Cry1Ab 和 Vip3A)和聚合多基因(如 MON89034 × TC1507 × MON88017 × DAS-59122, 表达 Cry2Ab2 + Cry1A.105, Cry1F, Cry3Bb1 和 Cry34/35Ab1 Bt 蛋白)的抗虫玉米不仅能防治多种鳞翅目害虫,还能防治鞘翅目玉米根萤叶甲 *Diabrotica virgifera virgifera* (ISAAA, 2018)。转基因抗虫作物不仅能够有效控制靶标害虫的危害,提高作物产量;还能减少化学农药的使用,降低环境污染(Shelton *et al*., 2001; Carrière *et al*., 2003);同时能为周边种植非转 Bt 作物的种植者带来一定的经济效益(Wu *et al*., 2008; Hutchison *et al*., 2010; Tabashnik, 2010)。

长期大面积种植转基因抗虫玉米,也会引发靶标害虫产生抗性。2007 年,在波多黎各,草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 对转 *cry1F* 基因玉米 TC1507 产生抗性(Storer *et al*., 2012);2018 年,首次在加拿大新斯科舍发现对 Cry1F 杀虫蛋白产生抗性的欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* 种群(Schaafsma *et al*., 2019)。虽然我国尚未进行转基因玉米的商业化种植,但室内汰选实验表明亚洲玉米螟可对 Cry1Ab 和 Cry1Ac 等多种杀虫蛋白产生抗性(Xu *et al*., 2010; 王月琴等, 2014; Zhang *et al*., 2014; Wang *et al*., 2016; Shabbir *et al*., 2018)。因此,商业化推广某一转基因抗虫玉米的同时,必须同时实施合理的抗性治理措施,以保障其长期的可持续利用。转双基因作物能够有效延缓抗性的产生,但是目前关于转双基因玉米对亚洲玉米螟的杀虫效果缺乏相关报道。因此,本研究首先测定了转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因玉米心叶中 Cry1Ab/Cry1Ac 融合蛋白的表达量,同时评价了该转基因事件对亚洲玉米螟的室内杀虫效果,以期为转基因玉米的环境安全评价及靶标害虫的抗性治理策略提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

亚洲玉米螟室内敏感品系(ACB-BtS):原始种群采自陕西省西安市,在室内无琼脂半人工饲料上连续饲养多代,饲养过程中未接触任何的 Bt 制剂和 Bt 杀虫蛋白。

亚洲玉米螟室内抗性品系:以 ACB-BtS 为起始虫源,在室内无琼脂半人工饲料中分别加入 Cry1Ac 和 Cry1Ab 蛋白进行幼虫全生育期汰选,分别得到亚洲玉米螟 Cry1Ac 抗性品系(ACB-AcR)和 Cry1Ab 抗性品系(ACB-AbR)。目前均已连续筛选 200 代以上,Cry1Ac 和 Cry1Ab 抗性品系的抗性倍数分别达 3 500 和 190 倍(Zhang *et al*., 2017)。

实验所用亚洲玉米螟品系均在温度 27 ± 1℃,相对湿度 70% ~80%,光周期 16L∶8D 的条件下饲养。

1.2 供试玉米

供试玉米为转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因玉米 ZZM030 及其非转基因对照玉米祥 249(X249),均由中国种

子集团有限公司生命科学技术中心提供。ZZM030 是以亲本对照玉米 X249 为受体材料，插入外源基因 *cry1Ab/cry1Ac* 以及 *epsps* 所得，同时具有抗虫和抗草甘膦除草剂的特性（张莉等，2019）。

1.3　转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因玉米心叶中 Cry1Ab/Cry1Ac 融合杀虫蛋白表达量测定

Bt-Cry1Ab/Cry1Ac ELISA 试剂盒为美国 Envirologix™ 公司生产。采用酶联免疫吸附法（ELISA）测定转基因玉米 4 叶期和 8 叶期心叶中 Cry1Ab/Cry1Ac 融合杀虫蛋白的含量。测定方法同王培等（2012），具体操作步骤如下：（1）测定开始前让所有试剂达到室温平衡；（2）裁剪清洗好的玉米叶片，用 250 μL 提取缓冲液提取大小为 10 mm^2 的绿色玉米叶片；（3）向 96 孔酶标板的每个孔中加入 50 μL Cry1Ab/Cry1Ac 缀合物，之后立即加入 50 μL 提取缓冲液作为空白对照，加入 50 μL 蛋白作为阳性对照，加入 50 μL 样品提取物到各自孔中，对照和处理分别测定 3 株和 7 株，1 株为 1 个生物学重复，每重复测定 3 次，每孔为 1 次重复；（4）循环移动酶标板 20 ~ 30 s，彻底混合孔内液体；（5）用封口膜覆盖酶标板，防止孔内液体蒸发，并在室温下孵育 1 ~ 2 h；（6）孵育后，小心取下覆盖物，洗板；（7）每孔加入 100 μL 底物并混合均匀，室温孵育 15 min；（8）每孔加入 100 μL 终止液并充分混匀，使溶液呈黄色；（9）在酶标仪 630 nm 处测定吸光值，根据 OD 值和标准曲线计算蛋白含量。根据制样时所取玉米叶片鲜重计算单位组织鲜重的蛋白含量。

1.4　室内生测

转基因玉米叶片中杀虫蛋白表达量随叶片生长下降，本试验采用玉米营养生长阶段蛋白表达量相对较低时的叶片进行组织生测。

从田间采集 6 – 8 叶期的玉米植株各 4 ~ 6 株带回室内。剥开植株，选取内层未展开的幼嫩心叶，先用自来水冲洗干净，再用蒸馏水冲洗 1 遍，用滤纸吸去表面水珠后晾干。用无菌剪刀将幼嫩心叶裁剪为长和宽均为 1 cm 左右大小的叶片，按照每孔 1 ~ 2 片放入 24 孔细胞培养板中（Corning 3524）。每孔接入 1 头待测试品系的初孵幼虫（孵化后 0 ~ 12 h），之后用封膜机将孔口封住，防治幼虫逃逸。用解剖针在每孔封口膜上扎孔，保证空气流通。将培养板放置于 27 ± 1℃，相对湿度 70% ~ 80%，光周期 16L∶8D的条件下饲养。试验共设置 6 个处理，每个处理为 3 次重复，每重复为 24 头初孵幼虫。

接虫后每 2 d 调查 1 次，根据叶片组织被取食情况随时添加或更换相同来源的新鲜叶片，并记录幼虫存活数（用毛笔轻触幼虫尾部，若幼虫不动，视为死亡；若单头存活幼虫重量 < 0.1 mg，按死亡计算）。试验观察到第 6 天为止。

1.5　数据分析

采用 *t* 检验检验转基因玉米 4 叶期和 8 叶期心叶中 Cry1Ab/Cry1Ac 融合蛋白表达量之间的差异显著性；不同亚洲玉米螟品系幼虫分别取食转基因玉米和对照玉米叶片后的存活率间差异显著性检验采用 *t* 检验，百分数进行了反正弦转换。当任一处理或对照所有重复的存活率为 100% 或 0 时，则不进行统计检验。所有统计分析过程采用 SPSS 22.0 软件计算。

2　结果

2.1　转基因玉米心叶中杀虫蛋白表达量

根据 ELISA 定量结果，转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因玉米 ZZM030 4 叶期和 8 叶期心叶中 Cry1Ab/Cry1Ac 融合杀虫蛋白的表达量分别为 10.62 ± 2.00 和 2.94 ± 1.08 μg/g FW，二者差异显著（$t = 3.389$，$df = 12$，$P = 0.005$）（图 1）。

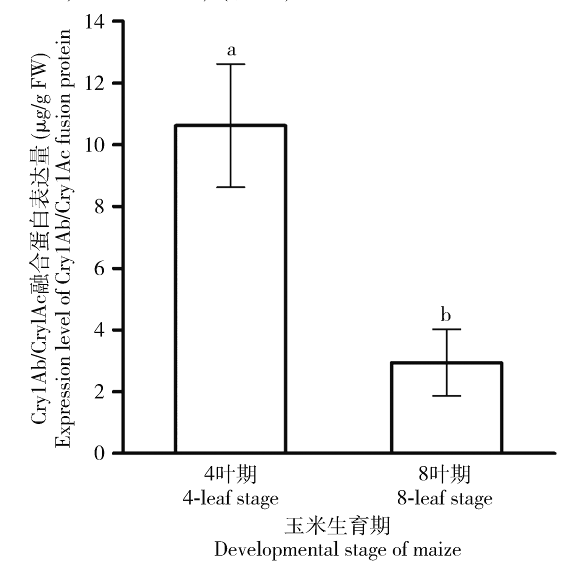


图 1　转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因玉米心叶中 Cry1Ab/Cry1Ac 融合蛋白表达量

Fig. 1　Expression level of Cry1Ab/Cry1Ac fusion protein in whorl leaves of transgenic *cry1Ab/cry1Ac* maize

图中数据为平均值 ± 标准误；柱上不同小写字母代表经 *t* 检验差异显著（$t = 3.389$，$df = 12$，$P = 0.005$）。Data in the figure are mean ± *SE*. Different lowercase letters above bars indicate significant differences according to *t*-test（$t = 3.389$，$df = 12$，$P = 0.005$）.

2.2　取食不同玉米心叶后不同亚洲玉米螟品系的存活率

室内生测结果（表 1）表明：ACB-BtS 初孵幼虫

取食转基因玉米 ZZM030 心叶 2 d 后的存活率仅为 23.6%,4 d 后存活率为 0,而取食非转基因玉米 X249 心叶 4 d 后的幼虫存活率高达 93.1%。ACB-AbR 初孵幼虫取食 ZZM030 叶片 2, 4 和 6 d 后,存活率均显著低于取食 X249 对应的存活率;6 d 后有 11.1% 的个体存活,但存活个体较小,发育受到严重抑制;而取食 X249 叶片的初孵幼虫发育正常,且 6 d 后的幼虫存活率高达 81.9%。ACB-AcR 初孵幼虫取食不同玉米心叶后的存活率存在显著差异,6 d 后取食 ZZM030 的存活率仅为 12.5%,而取食 X249 的初孵幼虫存活率高达 77.8%。结果说明,转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因玉米 ZZM030 对不同品系的亚洲玉米螟均具有良好的防治效果。

表 1 取食不同玉米心叶不同天数后不同品系亚洲玉米螟初孵幼虫的存活率(%)

Table 1 Survival rates (%) of the neonates of different strains of the Asian corn borer *Ostrinia furnacalis* fed on the whorl leaves of different maize lines for different days

玉米品系	ACB-BtS			ACB-AbR			ACB-AcR		
Maize line	2 d	4 d	6 d	2 d	4 d	6 d	2 d	4 d	6 d
ZZM030	23.6 ± 1.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	77.8 ± 3.7 b	43.1 ± 6.1 b	11.1 ± 5.6 b	61.1 ± 5.0 b	31.9 ± 12.1 b	12.5 ± 4.1 b
X249	100.0 ± 0.0	93.1 ± 1.4	84.7 ± 2.7	98.6 ± 1.4 a	90.3 ± 1.4 a	81.9 ± 1.4 a	95.8 ± 2.4 a	87.5 ± 2.4 a	77.8 ± 1.4 a
t	–	–	–	5.158	8.241	6.029	4.996	4.484	9.947
df	–	–	–	4.000	4.000	2.064	4.000	4.000	2.213
P	–	–	–	0.007	0.001	0.024	0.008	<0.011	0.007

ZZM030: 转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因玉米 Transgenic *cry1Ab/cry1Ac* maize; X249: 非转基因玉米 Non-transgenic maize; ACB-BtS: 敏感品系 Susceptible strain; ACB-AbR: Cry1Ab 抗性品系 Cry1Ab-resistant strain; ACB-AcR: Cry1Ac 抗性品系 Cry1Ac-resistant strain. –: 处理或对照所有重复的存活率分别为 100% 或 0 时不适合作统计分析 Not suitable to run statistical analysis when the survival rates of all three replications equal to either 0 in the treatment or 100% in the control. 表中数据为平均值 ± 标准误;同列数据后的不同字母表示经 *t* 检验差异显著($P < 0.05$)。Data in the table are mean ± *SE*. Different letters following the data in the same column represent significant differences at the 0.05 level according to *t*-test.

3 讨论

转基因抗虫作物高剂量表达目的杀虫蛋白是转基因作物可持续应用的关键。据报道,靶标害虫在田间对转基因抗虫作物产生抗性是由于目的杀虫蛋白的非高剂量表达。例如,在波多黎各,表达 Cry1F 杀虫蛋白的转基因玉米 TC1507 对草地贪夜蛾的防治效果一般,使得田间抗性种群产生,导致该转基因事件被强制召回(Storer *et al.*, 2012)。2009 年,在田间监测到玉米根萤叶甲的抗性种群,转基因玉米中 Cry3Bb1 杀虫蛋白的非高剂量表达和适合度代价是该靶标害虫产生抗性的主要原因(Gassmann *et al.*, 2011)。因此,转基因作物中目的杀虫蛋白表达量的高低将直接影响该作物对于靶标害虫的防治效果。在玉米心叶期,亚洲玉米螟初孵幼虫主要为害取食未展开的幼嫩心叶,所以明确玉米心叶中目的杀虫蛋白的表达量对于转基因玉米的杀虫效果评价具有重要意义。因此,本研究测定的转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因玉米 4 叶期和 8 叶期心叶中 Cry1Ab/Cry1Ac 融合蛋白的表达量分别为 10.62 和 2.94 μg/g FW(图 1),该转基因玉米在这两个时期心叶中杀虫蛋白表达量均高于中国不同地理种群亚洲玉米螟对 Cry1Ab 蛋白的敏感基线 LC_{50}(0.10 ~ 0.81 μg/g)(He *et al.*, 2005)。生测试验明确了转 *cry1Ab/cry1Ac* 玉米 ZZM030 对 ACB-BtS 品系具有很好的杀虫效果,4 d 后杀虫效果达到 100%。这对于今后转基因玉米的商业化种植,制定“高剂量”策略延缓抗性的产生具有重要的指导意义。

已有研究表明,室内汰选的 Cry1Ab 抗性品系亚洲玉米螟可在转 *cry1Ab* 基因玉米(MON810)的花丝上存活并化蛹(Xu *et al.*, 2010);也有研究表明,室内汰选的 Cry1Ac 抗性品系亚洲玉米螟对转 *cry1Ac* 基因玉米(Zh58Ac)的敏感性降低(Jiang *et al.*, 2016),在取食转 *cry1Ac* 基因玉米(BT799)的花丝、苞叶和籽粒 7 d 后的存活率为 81.3% ~97.2%(王月琴等, 2014)。这些研究结果均说明亚洲玉米螟有对田间转基因抗虫玉米产生抗性的风险。本试验通过评价转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因玉米 ZZM030 对 ACB-AbR 和 ACB-AcR 品系的杀虫效果,进一步明确该转基因玉米对玉米螟的抗性。结果表明:ACB-AcR 和 ACB-AbR 品系在取食转基因玉米 ZZM030 叶片 6 d 后虽然仍有少数存活(表 1),但是存活幼虫的发育受到严重抑制,表明 ACB-AcR 和 ACB-

AbR 品系对转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因玉米 ZZM030 具有一定的抗性。该研究结果一方面说明转基因玉米的抗虫性状为功能显性，另一方面说明转基因玉米的抗虫效果可能是玉米自身抗虫物质和 Bt 杀虫蛋白相互作用的结果，在欧洲玉米螟 Dipel 抗性品系中有相似的现象（Huang *et al*., 2002）。

靶标害虫对 Bt 杀虫蛋白产生抗性是一种生物进化现象，是抗性基因被杀虫蛋白选择的结果。适合度指生物在所处环境中能够生存并把它的特性遗传给下一代的相对能力。因此，处在 Bt 选择压下的抗性基因型适合度一般比敏感基因型适合度高，但是，当不接触 Bt 杀虫蛋白时，抗性基因型的适合度一般表现为不利，即适合度劣势（Tabashnik, 1994；郭芳等, 2009）。如对 Vip3A 产生抗性的草地贪夜蛾幼虫在常规高粱上的发育历期和蛹重显著低于敏感品系（Chen *et al*., 2018）。本研究结果表明，同 ACB-BtS 敏感品系相比，取食非转基因玉米 X249 相同天数后 ACB-AbR 和 ACB-AcR 两个抗性品系存活率较低，但与 ACB-BtS 品系相比无显著差异（$P > 0.1$），说明取食常规玉米时亚洲玉米螟抗性品系不存在适合度劣势，而在抗性治理过程中，适合度劣势有利于延缓抗性的产生。

参考文献（References）

Carrière Y, Ellers-Kirk C, Sisterson M, Antilla L, Whitlow M, Dennehy TJ, Tabashnik BE, 2003. Long-term regional suppression of pink bollworm by *Bacillus thuringiensis* cotton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100(4): 1519－1523.

Chen X, Head GP, Price P, Kerns DL, Rice ME, Huang FN, Gilreath RT, Yang F, 2018. Fitness costs of Vip3A resistance in *Spodoptera frugiperda* on different hosts. *Pest Manag. Sci*., 75(4): 1074－1080.

Gassmann AJ, Petzold-Maxwell JL, Keweshan RS, Dunbar MW, 2011. Field-evolved resistance to Bt maize by western corn rootworm. *PLoS ONE*, 6(7): e22629.

Guo F, Liang GM, Cao GC, Chen H, Wu KM, Gao XW, Guo YY, 2009. The fitness costs of insect resistance to *Bacillus thuringensis* and their correlationship with resistance management strategy. *J. Environ. Entomol*., 31(2): 162－167. [郭芳, 梁革梅, 曹广春, 陈豪, 吴孔明, 高希武, 郭予元, 2009. 昆虫对 Bt 抗性的适合度代价及其与抗性治理策略的关系. 环境昆虫学报, 31(2): 162－167]

He KL, Wang ZY, Wen LP, Bai SX, Ma X, Yao ZY, 2005. Determination of baseline susceptibility to Cry1Ab protein for Asian corn borer (Lep., Crambidae). *J. Appl. Entomol*., 129(8): 407－412.

He KL, Wang ZY, Zhou DR, Wen LP, Song YY, Yao ZY, 2003. Evaluation of transgenic Bt corn for resistance to the Asian corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol*., 96(3): 935－940.

Huang FN, Buschman LL, Higgins RA, Li HR, 2002. Survival of Kansas Dipel-resistant European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) on Bt and non-Bt corn hybrids. *J. Econ. Entomol*., 95(3): 614－621.

Hutchison WD, Burkness EC, Mitchell PD, Moon RD, Leslie TW, Fleischer SJ, Abrahamson M, Hamilton KL, Steffey KL, Gray ME, Hellmich RL, Kaster LV, Hunt TE, Wright RJ, Pecinovsky K, Rabaey TL, Flood BR, Raun ES, 2010. Areawide suppression of European corn borer with Bt maize reaps savings to non-Bt maize growers. *Science*, 330(6001): 222－225.

ISAAA, 2018. Global status of commercialized biotech/GM crops in 2018: biotech crops continue to help meet the challenges of increased population and climate change. ISAAA Brief No. 54. ISAAA, Ithaca, NY.

Jiang F, Zhang TT, Bai SX, Wang ZY, He KL, 2016. Evaluation of Bt corn with pyramided genes on efficacy and insect resistance management for the Asian corn borer in China. *PLoS ONE*, 11(12): e0168442.

Schaafsma A, Farhan Y, Smith J, 2019. The first case of field failure of Bt corn to control European corn borer *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) discovered in Nova Scotia, Canada. The 27th IWGO Conference, 14－17 October 2019, Engelberg, Switzerland.

Shabbir MZ, Quan YD, Wang ZY, Bravo A, Soberón M, He KL, 2018. Characterization of the Cry1Ah resistance in Asian corn borer and its cross-resistance to other *Bacillus thuringiensis* toxins. *Sci. Rep*., 8(1): 234.

Shelton AM, Zhao JZ, Roush RT, 2001. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. *Annu. Rev. Entomol*., 47: 845－881.

Song LQ, Wei LM, Wang ZY, He KL, Cong B, 2009. Effect of infestation by the Asian corn borer together with *Fusarium verticillioides* on corn yield loss. *Acta Phytophyl. Sin*., 36(6): 487－490. [宋立秋, 魏利民, 王振营, 何康来, 丛斌, 2009. 亚洲玉米螟与串珠镰孢菌复合侵染对玉米产量损失的影响. 植物保护学报, 36(6): 487－490]

Storer NP, Kubiszak ME, Ed King J, Thompson GD, Santos AC, 2012. Status of resistance to Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: lessons from Puerto Rico. *J. Invertebr. Pathol*., 110(3): 294－300.

Tabashnik BE, 1994. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu. Rev. Entomol*., 39: 47－79.

Tabashnik BE, 2010. Communal benefits of transgenic corn. *Science*, 330(6001): 189－190.

Wang DY, Wang ZY, He KL, Cong B, Bai SX, Wen LP, 2004. Temporal and spatial expression of Cry1Ab toxin in transgenic Bt corn and its effects on Asian corn borer *Ostrinia furnacalis* (Guenée). *Sci. Agric. Sin*. 37(8): 1155－1159. [王冬妍, 王振营, 何康来, 丛斌, 白树雄, 文丽萍, 2004. Bt 玉米杀虫蛋白含量的时空表达及对亚洲玉米螟的杀虫效果. 中国农业科学, 37(8): 1155－1159]

Wang P, He KL, Wang ZY, Wang YL, 2012. Evaluating transgenic *cry1Ac* maize for resistance to *Ostrinia furnacalis* (Guenée). *Acta Phytophyl. Sin.*, 39(5): 395 - 400. [王培, 何康来, 王振营, 王应伦, 2012. 转 *cry1Ac* 玉米对亚洲玉米螟的抗性评价. 植物保护学报, 39(5): 395 - 400]

Wang YQ, He KL, Jiang F, Wang YD, Zhang TT, Wang ZY, Bai SX, 2014. Resistance of transgenic Bt corn variety BT799 to the Asian corn borer. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 51(3): 636 - 642. [王月琴, 何康来, 江帆, 王依冬, 张天涛, 王振营, 白树雄, 2014. BT799 玉米对亚洲玉米螟抗性研究. 应用昆虫学报, 51(3): 636 - 642]

Wang YQ, Wang YD, Wang ZY, Bravo A, Soberón M, He KL, 2016. Genetic basis of Cry1F-resistance in a laboratory selected Asian corn borer strain and its cross-resistance to other *Bacillus thuringiensis* toxins. *PLoS ONE*, 11(8): e0161189.

Wang ZY, Lu X, He KL, Zhou DR, 2000. Review of history, present situation and prospect of the Asian maize borer research in China. *J. Shenyang Agric. Univ.*, 31(5): 402 - 412. [王振营, 鲁新, 何康来, 周大荣, 2000. 我国研究亚洲玉米螟历史、现状与展望. 沈阳农业大学学报, 31(5): 402 - 412]

Wu KM, Lu YH, Feng HQ, Jiang YY, Zhao JZ, 2008. Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with Bt toxin-containing cotton. *Science*, 321(5896): 1676 - 1678.

Xu LN, Wang ZY, Zhang J, He KL, Ferry N, Gatehouse AMR, 2010. Cross-resistance of Cry1Ab-selected Asian corn borer to other Cry toxins. *J. Appl. Entomol.*, 134(5): 429 - 438.

Zhang L, Shen WJ, Fang ZX, Liu B, 2019. Effect of transgenic maize ZZM030 on growth and reproduction of *Daphnia magna*. *J. Agro-Environ. Sci.*, 38(9): 2074 - 2079. [张莉, 沈文静, 方志翔, 刘标, 2019. 转基因玉米 ZZM030 对大型蚤(*Daphnia magna*)生长和繁殖的影响. 农业环境科学学报, 38(9): 2074 - 2079]

Zhang TT, Coates BS, Wang YQ, Wang YD, Bai SX, Wang ZY, He KL, 2017. Down-regulation of aminopeptidase N and ABC transporter subfamily G transcripts in Cry1Ab and Cry1Ac resistant Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Int. J. Biol. Sci.*, 13(7): 835 - 851.

Zhang TT, He MX, Gatehouse AMR, Wang ZY, Edwards MG, Li Q, He KL, 2014. Inheritance patterns, dominance and cross-resistance of Cry1Ab- and Cry1Ac-selected *Ostrinia furnacalis* (Guenée). *Toxins*, 6(9): 2694 - 2707.

Zhou DR, 1996. Occurrence, control and research progress for Asian corn borer in China. *Plant Prot. Technol. Ext.*, 16(2): 38 - 40. [周大荣, 1996. 我国玉米螟的发生、防治与研究进展. 植保技术与推广, 16(2): 38 - 40]

(责任编辑: 赵利辉)